Über die Bildung von Ammoniak

aus stickstoffhaltigen Düngemitteln organischen Ursprungs.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

der Philosophischen Fakultät der Universität Leipzig

vorgelegt von

Alfred Ernest Parr

aus Ashley (England).

Borna-Leipzig

Buchdruckerei Robert Noske

1906.

Angenommen von der philosophisch-historischen Sektion
auf Grund der Gutachten der Herren

Kirchner und Beckmann

Leipzig, den 17. Juli 1906.

Der Procancellar
Marx.

Meinen Eltern.

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
I. Einleitung	1
II. Plan der Untersuchung	5
III. Untersuchungsmethoden	7
IV. Boden	18
V. Witterung	20
VI. Ergebnisse der Umsetzungsversuche	22
VII. Die am häufigsten aufgefundenen Bakterienarten	31
VIII. Ergebnisse der Versuche mit Reinkulturen	36
Anhang: Tabellen und Kurven-Tafel	42

I. Einleitung.

Von den verschiedenen Grundstoffen, die für das Wachstum unserer Feldfrüchte wesentlich, im Boden jedoch nicht in hinreichenden Mengen vorhanden sind, ist es der Stickstoff, der für den Landwirt von besonderer Wichtigkeit ist. Da für den Ankauf stickstoffhaltiger Düngemittel oft bedeutende Summen aufgewendet werden müssen, so ist es von der größten Wichtigkeit, daß der beste Gebrauch von ihnen gemacht wird, und da die Zahl derartiger Düngemittel keinenfalls gering und ihre Wirkung oft recht verschieden ist, so ist es nicht immer leicht, die richtigste Wahl zu treffen. Verschiedene Forscher, wie Wagner,[1] Maercker,[2] Stutzer,[3] Gerlach,[4] Petermann,[5]

---

[1] Wagner, Stickstoffdüngung der landw. Kulturpflanzen, S. 191; Jahrbuch der deutsch. Landw. Gesellschaft 1899 S. 62.

[2] Maercker, Zentralbl. f. Agric.-Chemie 1886 S. 233, 1889 S. 721; Mitt. der deutsch. Landw. Gesellschaft 1889 für August 21.

[3] Stutzer, Düngerlehre.

[4] Gerlach, Zentralbl. f. Agric.-Chemie 1901 S. 450.

[5] Petermann, Bulletin de la station agric. experimentale de l'état à Gemtlouse Nr. 23 et Nr. 36, 1886.

Waringtón,[1]) Kellner[2]) und Grahl[3]) waren deshalb bemüht, einiges Licht über die differente Wirkungsweise der stickstoffhaltigen Düngemittel zu verbreiten, und sie versuchten bestimmte Relationen zwischen den Wirkungswerten der verschiedenen Düngemittel zu ermitteln. Aber alle diese Versuche haben gezeigt, daß dies unmöglich ist. Ihre Wirkungswerte können, je nach den Umständen, in mehr oder minder bedeutendem Grade schwanken; dasjenige Düngemittel, was sich für den einen Boden als das geeignetste erweist, kann für einen andern recht wenig brauchbar sein und umgekehrt. Das gleiche gilt für die klimatischen Verhältnisse. Es ist wohl bekannt, daß die Mehrzahl dieser Düngemittel gewisse Veränderungen erleiden muß, ehe der darin enthaltene Stickstoff von den Pflanzen assimiliert werden kann. Die stickstoffhaltigen organischen Stoffe müssen zunächst in Ammoniak und dieses in Salpetersäure übergeführt werden. Es ist bekannt, daß diese Umsetzungen das Werk zahlreicher Bakterien sind. Müntz und Coudon[4]) zeigten, daß im sterilisierten Boden kein

---

[1]) Waringtón, Journal of the Royal Agric. Society of England 3 Ser. Bd. 11 S. 200.

[2]) Kellner, Zentralbl f. Agric.-Chemie 1890 S. 307.

[3]) Grahl, Jahrbuch der deutsch. Landw. Gesellschaft 1895 S. 482.

[4]) Müntz, Compt. rendus de Paris 110, 1890 p. 1206; Muntz et Coudon, Compt. rendus 116, 1893 p. 395.

Ammoniak gebildet wird. Stoklasa,[1]) Marchal,[2]) Löhnis[3]) u. a. prüften zahlreiche Arten von Bodenbakterien hinsichtlich ihrer Fähigkeit, Ammoniak aus organischen stickstoffhaltigen Substanzen zu entwickeln. Schloesing und Müntz,[4]) Waringtons[5]) und Winogradsky,[6]) verdanken wir die Kenntnis vom Vorhandensein und Wirken der salpeterbildenden Bakterien. Weiterhin führte Remy[7]) einige vergleichende Bodenuntersuchungen vom bakteriologischen Standpunkte aus, indem er vier Böden hinsichtlich ihrer Fähigkeit

1. Aus Pepton Ammoniak abzuspalten, d. h. die sogenannte „Fäulniskraft“,
2. Ammoniak in Salpeter überzuführen oder die Nitrifikation,
3. den Salpeter unter Entbindung freien Stickstoffs zu zersetzen, die sogen. Denitrifikation

untersuchte.

---

[1]) Stoklasa, Zentralbl. f. Bakt. Abt. 2 Bd. 6 1900 S. 529.

[2]) Marchal, Agric. Science 8, 1894 p. 574; Zentralbl. f. Bakt. Abt. 2 Bd. 1 1895 S. 573; Bulletins de l'Academie des sciences de Bruxelles 1893, Ser. 3 Nr. 25 p. 727.

[3]) Löhnis, Habilitationsschrift 1905 S. 78.

[4]) Schloesing et Müntz, Compt. rendus de Paris vol. 84 p. 301, vol. 85 p. 1018.

[5]) Warington, Chem. Soc. Journal 1878 p. 44.

[6]) Winogradsky, Annal. de l'Inst. Pasteur 4, 1890 p. 213, 257, 760; Zentralbl. f. Bakt. Abt. 2 Bd. 2 1896 S. 415.

[7]) Remy, Zentralbl. f. Bakt. Abt. 2 Bd. 8 1902 S. 657.

Er prüfte in der Weise, daß er entsprechend zusammengesetzte Lösungen mit Erdproben impfte und die erfolgten Umsetzungen teils quantitativ, teils auch nur qualitativ nachwies. In den Schlußbemerkungen zu seiner Arbeit sagt er[1]): „Das vorläufige Gesamtergebnis der beschriebenen Versuche, denen in erster Linie orientierender Charakter zukommen soll, würde also kurz dahin zusammenzufassen sein, daß die Größe der faulenden, salpeterbildenden und salpeterzerstörenden Kraft des Bodens auf das Wirkungsverhältnis der verschiedenen Stickstoffdünger einen deutlich wahrnehmbaren Einfluß ausübt.“ Um die „Fäulniskraft“ des Bodens abzuschätzen, benutzte Remy eine einprozentige wäßrige Lösung von Pepton Schering, die er mit 10% Erde infizierte, und in der er durch Destillation mit Magnesia usta nach 4 und 8 Tagen die Menge des bei 20° C. entstandenen Ammoniaks bestimmte.

Bei viertägiger Versuchsdauer zeigten die vier geprüften Bodenarten ein deutlich verschiedenes Verhalten. Die von Remy begonnene Arbeit wurde später von Ehrenberg[2]) fortgesetzt. Auch er benutzte Pepton Schering, prüfte jedoch eine größere Zahl von Böden. Wohltmann, H. Fischer und Schneider[3])

---

[1]) Remy l. c. S. 661 und 662.

[2]) Ehrenberg, Landw. Jahrbücher 33 1904 S. 1.

[3]) Wohltmann, H. Fischer und Schneider, Journal für Landw. 52 1904 S. 97.

stellten einige ähnliche Untersuchungen mit Pepton Witte an. Löhnis[1]) änderte die Methode, indem er im Anschluß an die Verhältnisse der landwirtschaftlichen Praxis an Stelle von Pepton Knochenmehl benutzte. Er suchte festzustellen, in welcher Weise die Zersetzung dieser Substanz durch Witterung, Bodenbearbeitung usw. beeinflußt wurde.

Gleichzeitig führte er nebenbei einige Versuche mit Pepton Merck aus. Löhnis[2]) betonte, wie dies schon früher von Wohltmann[3]) geschehen war, daß vergleichende Untersuchungen nötig seien, um festzustellen, ob überhaupt eine bestimmte Substanz, wie das von Remy benutzte Pepton Schering tatsächlich einen allgemein zutreffenden Anhalt für die Fäulniskraft bezw. für die Intensität der Ammoniakbildung geben könnte.

Die vorliegende Arbeit wurde unternommen, um diese von Löhnis, wie oben erwähnt, nur kurz berührte Frage einer eingehenden Erörterung zu unterziehen.

II. Plan der Untersuchung.

Folgende Substanzen wurden für die Untersuchung ausgewählt:

---

[1]) Löhnis l. c. S. 79.

[2]) Löhnis l. c. S. 26.

[3]) Wohltmann l. c. S. 113.

Pepton Merck,
Pepton Witte,
Pepton Schering,
Knochenmehl,
Hornmehl,
Blutmehl.

Die Untersuchungen sollten sich nach drei Richtungen erstrecken:

1. Es sollte ermittelt werden, in welcher Art die Bildung von Ammoniak aus den oben erwähnten Substanzen während eines längeren Zeitraumes vor sich ging. Insbesondere sollte geprüft werden, ob der Einfluß der Jahreszeit, des Wetters usw. in gleicher oder in verschiedener Weise auf den Verlauf der Bildung von Ammoniak aus den genannten organischen stickstoffhaltigen Substanzen einwirkt.

2. Aus den mit Erde infizierten Lösungen sollten diejenigen aëroben Bakterien isoliert werden, die darin in größter Menge zur Entwicklung kamen, und zwar sollte diese Isolierung mehrere Male wiederholt werden, um festzustellen, ob während der Dauer der Untersuchungen Änderungen hinsichtlich der Art der vorhandenen Bakterien sich bemerklich machen würden oder nicht.

3. Die isolierten Bakterienarten sollten auf ihre Befähigung zur Ammoniakbildung geprüft werden, um festzustellen, ob die aufgefundenen Bakterien wirklich eine wichtige Rolle bei der Zersetzung

der organischen stickstoffhaltigen Substanzen bezw. bei der Bildung von Ammoniak spielen.

Um die Untersuchungen nicht zu sehr zu komplizieren, wurden nur der Einfluß der Jahreszeit und des Wetters in Betracht gezogen. Der Boden des Feldes, das im Vorjahre Klee getragen hatte, wurde während der ganzen Zeit nicht bearbeitet, so daß störende Einflüsse, die durch die Bodenbearbeitung hätten verursacht werden können, ausgeschlossen waren.

III. Untersuchungsmethoden.

Da die landwirtschaftliche Bedeutung der im Boden vorkommenden Bakterien in viel höherem Grade von den Eigenschaften und der Leistungsfähigkeit der Arten bezw. Rassen als von der Zahl der vorhandenen Mikroorganismen abhängt, wie dies von Löhnis[1]) ausführlich gezeigt worden ist, so hat sich prinzipiell wenigstens die von Remy[2]) befolgte Methode als sehr nützlich für derartige Bodenuntersuchungen erwiesen. Namentlich gilt dies für die Verwendung relativ großer Erdmengen (10 %) für die Impfung der zweckentsprechend zusammengesetzten Lösungen. Daß hierbei entschieden zuverlässigere Resultate erlangt

---

[1]) Löhnis, Zentralbl. f. Bakt. Abt. 2 Bd. 12 1904 S. 262, 448, Bd. 14 1905 S. 1.

[2]) Remy l. c. S. 670.

werden, als es der Fall ist, wenn geringere Erdmengen benutzt werden, hat Löhnis[1]) gezeigt. In dieser Hinsicht lag demnach kein Grund zu besonderen informierenden Versuchen vor. Dagegen wurden zunächst einige Vorversuche ausgeführt, die darüber Auskunft geben sollten, welches die zweckmäßigste Zeitdauer für die verschiedenen Versuchsreihen sei. Wie Remy beim Pepton, so hatte auch Löhnis beim Knochenmehl die Beobachtung gemacht, daß eine allzulange Ausdehnung der Umsetzungsversuche nicht von Vorteil ist. Gleichzeitig sollte geprüft werden, ob das Bodenextrakt, das nach den Erfahrungen des letztgenannten Autors sich für derartige Versuche in verschiedenen Richtungen als recht günstig erwiesen hat, auch in diesem Falle der einfacheren wäßrigen Lösung vorzuziehen sein würde.

Die Menge der stickstoffhaltigen Substanzen sollte derart bemessen werden, daß die in 100 ccm Lösung vorhandene Stickstoffmenge ungefähr derjenigen gleich war, die Remy und nach ihm Ehrenberg sowie Wohltmann und dessen Mitarbeiter in Anwendung gebracht haben.

Die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl ergab folgende Resultate:

Pepton Witte	12,50 %
Pepton Merck	12,50 %

[1]) Löhnis, Zentralbl. f. Bakt. Abt. 2 Bd. 12 S. 450.

Pepton Schering	7,70 % [1]
Knochenmehl	4,40 %
Hornmehl	12,70 %
Blutmehl	13,04 %

Dementsprechend wurden zur Herstellung der Lösungen dem Bodenextrakt [2] bezw. dem Leitungswasser folgende Mengen zugesetzt:

von Pepton Witte, Merck, Hornmehl, Blutmehl 1 %
von Pepton Schering 2 %
von Knochenmehl 3 %

Je 50 ccm wurden mit 5 g Erde geimpft, und während der in der nachstehenden Tabelle angegebenen Zahl von Tagen bei Zimmertemperatur aufbewahrt; danach wurden bei der Destillation mit Magnesia usta folgende Stickstoffmengen in Milligramm ausgetrieben.

---

[1]) Der auffallend niedrige Stickstoffgehalt des Scheringschen Präparates, in dem Remy und Ehrenberg früher einen mit den anderen Peptonsorten ungefähr übereinstimmenden Stickstoffgehalt gefunden hatten, veranlaßte mich zu mehrmaliger Wiederholung der Analysen. Sie ergaben stets dasselbe Resultat und auch eine einige Monate später bezogene Probe derselben Herkunft hatte keinen höheren Stickstoffgehalt.

[2]) In der Herstellungsweise hielt ich mich an die von Löhnis, Zentralbl. f. Bakt. Abt. 2 Bd. 12 S. 461 gegebene Vorschrift.

Substanz	Parallel	Bodenextrakt					
		3 Tage	5 Tage	7 Tage	9 Tage	10 Tage	20 Tage
Pepton Merck	a	22.68	31.92	35.84	36.96	—	—
	b	21.00	34.16	36.68	35.20		
Pepton Witte	a	5.60	24.64	35.84	44.80	—	—
	b	7.84	25.48	37.52	44.52		
Pepton Schering	a	10.08	19.60	32.48	42.28	—	—
	b	8.96	21.28	31.08	43.68		
Knochenmehl	a	—	—	—	—	20.44	21.84
	b					20.58	23.52
Hornmehl	a	—	—	—	—	9.24	13.30
	b					9.24	13.72
Blutmehl	a	—	—	—	—	3.64	3.50
	b					3.36	3.08

Substanz	Parallel	Leitungswasser					
		3 Tage	5 Tage	7 Tage	9 Tage	10 Tage	20 Tage
Pepton Merck	a	23.52	32.48	37.24	36.96	—	—
	b	21.28	32.48	36.40	35.88		
Pepton Witte	a	9.80	21.00	35.84	42.00	—	—
	b	7.24	20.16	35.56	39.76		
Pepton Schering	a	8.40	24.64	33.6	42.00	—	—
	b	9.24	24.08	35.0	39.76		
Knochenmehl	a	—	—	—	—	20.44	21.28
	b					19.60	—
Hornmehl	a	—	—	—	—	8.26	12.74
	b					7.84	11.90
Blutmehl	a	—	—	—	—	3.08	3.96
	b					3.08	3.92

Aus den Zahlen geht hervor, daß beim Pepton Merck der Betrag, der sich zwischen dem fünften und neunten Tage gebildet hat, klein war im Vergleiche zu demjenigen, der bis zum fünften Tage entstanden war. Pepton Witte und Schering waren bis zum dritten Tage nur wenig zersetzt, aber dies trat dann rasch ein und die Werte stiegen am fünften und siebenten Tage; dagegen nahmen sie bis zu der am neunten Tage stattfindenden Destillation nicht mehr im gleichen Maße zu. Knochenmehl, Hornmehl und Blutmehl wiesen weit mehr durch Magnesia usta abspaltbaren Stickstoff in den ersten zehn Tagen auf als in der zweiten Dekade, in der, was das Knochenmehl anlangt, so gut wie keine Vermehrung stattgefunden hat.

Die starke Zersetzung in den ersten Stadien veranlaßte mich, als Versuchsdauer für die verschiedenen Peptone fünf Tage, für die andern Substanzen zehn Tage zu wählen.

Da diejenigen Differenzen, die sich für die mittels Leitungswassers oder Bodenextrakts hergestellten Lösungen ergaben, nur sehr gering waren, wurden der Einfachheit halber für die weiteren Versuche ausschließlich die entsprechenden, unter Benutzung von Leitungswasser bereiteten Lösungen verwendet.

Im einzelnen ist über die innegehaltene Arbeitsweise noch folgendes zu bemerken:

Die Umsetzungsversuche wurden sämtlich in sogen. Verbrennungskolben von ungefähr 100 ccm Inhalt durch-

geführt, die jedesmal mit 50 ccm Lösung und 5 g Erde beschickt wurden. Nachdem die Untersuchungen beendet waren, wurde die Lösung mit der Erde restlos in den Destillierkolben gespült und das Ammoniak durch halbstündiges Erhitzen der Lösung mit Magnesia usta (ungefähr 5 g) destilliert. Allerdings werden hierbei nicht nur Ammoniak, sondern auch geringe Mengen von Amidstickstoff mit bestimmt, und der Ausdruck „Ammoniakstickstoff" ist demgemäß in einem etwas weiteren Sinne zu verstehen. Das ausgetriebene Ammoniak wurde in $^1/_{10}$ normal Schwefelsäure aufgefangen und darin durch Rücktitration der freien Schwefelsäure mittels ca. $^1/_5$ Normalammoniak ermittelt.

Die zum Versuch erforderlichen Lösungen wurden stets unmittelbar vor dem Impfen hergestellt und in dem mit Watte verschlossenen Versuchsgefäßen $^1/_4$ Stunde im strömenden Dampf erhitzt. Nach dem Erkalten wurden sie mit der entsprechenden Erdmenge geimpft.

Zweifellos können bei dem nur einmaligen Erhitzen einige Keime in den benutzten Lösungen am Leben geblieben sein, doch gilt in dieser Hinsicht dasselbe, was Löhnis in bezug auf die Verwendung peinlichst sterilisierter Gerätschaften für derartige Untersuchungen sagt: „Es ist natürlich praktisch unmöglich, daß in den mit Erde versetzten Kolben, in die z. B. bei einem fünf Millionen Peptonbakterien pro Gramm enthaltenden Boden, bei Verwendung von 10 g Erde gleich von vornherein 50 Millionen Pepton zersetzende Bakterien

hineingebracht werden, die sich dann sehr bald noch zu ungeheurer Zahl vermehren, eine etwaige Einwirkung der wenigen Individuen, die an einem sauberen, wenn auch nicht sterilisierten Gerät zufällig haften, irgendwie festgestellt werden könnte; eine solche ist aber offenbar völlig irrelevant."

Nachdem die Kolben mit Boden geimpft waren, wurden sie in einem halbdunklen Raum bei 18—20° C aufbewahrt. Jedesmal wurden zwei Parallelversuche angestellt.

Die Entnahme der Bodenproben erfolgte in der Weise, daß (abgesehen von der ersten im Oktober begonnenen Versuchsreihe) stets an zwei etwa 20 m voneinander entfernten Stellen des Feldes quadratische Gruben von ca. 20 cm Seitenlänge ausgeworfen wurden. Aus den mit dem Spaten abgestochenen Seitenwänden wurde mittels eines sauberen Löffels die erforderliche Erdmenge 8—12 cm unter der Oberfläche entnommen und in sterilisierte Glasflaschen mit eingeschliffenen Stopfen gefüllt. Im Oktober nahm ich deshalb nur eine Bodenprobe, weil ich damals noch mit den oben erwähnten Vorversuchen beschäftigt war. Um diejenigen Ammoniakmengen festzustellen, die in den mit Erde geimpften Lösungen vorhanden waren, ehe die Bakterien darauf eingewirkt hatten, wurden einige Destillationen unmittelbar nach der Aufnahme der Erdproben ausgeführt. Es ergaben sich folgende Resultate (mg pro 50 ccm):

	a)	b)
Pepton Merck	2.52	2.52
Pepton Witte	0.56	0.42
Pepton Schering	0.70	0.56
Knochenmehl	0.84	0.98
Hornmehl	1.82	1.96
Blutmehl	0.70	0.70

Die Befunde waren dieselben, wenn die mit Erde versetzten Lösungen an fünf aufeinanderfolgenden Tagen je 15 Minuten im strömenden Dampf erhitzt und dann destilliert wurden. Eine Vermehrung des Ammoniakstickstoffs fand nicht statt. Anders verhielt es sich dagegen, wenn die so behandelten Versuchskolben längere Zeit aufbewahrt wurden. Löhnis[1]) hat schon darauf hingewiesen, daß es kaum möglich ist, derartige, mit größeren Bodenmengen geimpfte Lösungen durch Erhitzen im strömenden Dampf zu sterilisieren. Ich fand in den betreffenden Kolben nach vierwöchiger Aufbewahrung folgende Mengen Stickstoff, die durch Magnesia usta abspaltbar waren (mg in 50 ccm):

	a)	b)
Pepton Merck	8.96	5.60
Pepton Witte	5.04	4.76
Pepton Schering	5.60	3.64
Knochenmehl	3.50	5.04
Hornmehl	2.80	1.40
Blutmehl	1.40	1.40

[1]) Löhnis, Habilitationsschrift S. 14.

Auch die mikroskopische und kulturelle Prüfung der betreffenden Lösungen ließ eine lebhafte Bakterienvegetation erkennen. Am häufigsten war Bacillus mesentericus darin vorhanden. Sicher sterile Lösungen lassen sich nur durch eine ausreichende Zugabe von Sublimat erreichen. Derart behandelte Kolben enthielten nach Verlauf von vier Wochen folgende Mengen an Ammoniakstickstoff (mg pro 50 ccm):

	a)	b)
Pepton Merck	1.96	2.24
Pepton Witte	0.56	0.56
Pepton Schering	0.70	0.56
Knochenmehl	0.42	0.42
Hornmehl	0.56	0.42
Blutmehl	0.14	0.28

Infolge der Einwirkung des Sublimats sind die auf diese Weise erlangten Werte in einigen Fällen niedriger als die oben für die unzersetzten Lösungen mitgeteilten Zahlen.

Hinsichtlich der Isolierung derjenigen unter aëroben Bedingungen gedeihenden Bakterien, die am häufigsten in den mit Erde geimpften Lösungen auftraten, ist folgendes zu bemerken. Die Isolierung wurde viermal durchgeführt, und zwar

1. von der Oktoberprobe,
2. von der Dezemberprobe,
3. von der Januarprobe,
4. von der Märzprobe.

Zu diesem Zwecke wurde das übliche von Robert Koch vorgeschlagene Plattenverfahren (mit Fleischpeptongelatine) benutzt. Die Petrischalen wurden bei ca. 20° C aufbewahrt.

Diejenigen Bakterien, welche in ihren Kolonien auf den Platten verschiedenes Aussehen zeigten, wurden abgeimpft und dann noch mehrmals Platten gegossen, bis sich die Kulturen als sicher rein erwiesen. Die Bakterien wurden dann in der gewöhnlichen Weise auf den verschiedenen Nährböden (Agar, Gelatine, Bouillon, Milch und Kartoffeln) mikroskopisch und kulturell geprüft.

Um diejenigen Arten von vornherein etwas zurückzudrängen, die vielleicht nur als zufällige Begleiter in den ursprünglichen mit Erde geimpften Lösungen vorhanden waren, wurden jedesmal drei oder vier Platinösen voll in ein Reagensglas übertragen, das ungefähr 10 ccm der entsprechenden sterilisierten Lösung enthielt. Auf diese Weise wurden immer zwei Parallelgläser geimpft, bei Zimmertemperatur aufbewahrt, und von ihnen nach Verlauf von fünf und von zehn Tagen in derselben Weise, im ganzen fünfmal hintereinander abgeimpft. Die fünfte Abimpfung wurde zur Isolierung der Bakterien verwendet.

Das nach dieser Methode auf den Gelatineplatten erlangte Resultat schien auf den ersten Blick nicht recht zufriedenstellend, da verhältnismäßig nur wenige verschiedene Arten von Bakterien gefunden wurden.

Deshalb wurden weiterhin unmittelbar aus der Originallösung Gußkulturen angelegt. Auf die verschiedenen Resultate, welche diese beiden Methoden ergaben, werde ich später zurückkommen.

Da in vielen Fällen die Bakterien, welche auf der Gelatine wuchsen, diese sehr schnell verflüssigten, so war es nötig sie abzutöten, um auch die langsamer wachsenden Arten zur Entwicklung kommen zu lassen. Hierfür erwies sich die Benutzung des von Hiltner und Störmer[1]) zu diesem Zwecke vorgeschlagenen Silbernitrats als sehr geeignet.

Die so behandelten Platten konnten dann stets mindestens zehn Tage aufbewahrt werden.

Um die verschiedenen Arten von Bakterien auf ihre Fähigkeit zur Bildung von Ammoniak zu prüfen, verfuhr ich in der folgenden Weise: In Kolben von je 200 ccm Inhalt, die an ihrem Halse einen seitlichen Ansatz trugen, wurden je 50 ccm der verschiedenen, zu den mit Erde eingeleiteten Umsetzungsversuchen benutzten Lösungen gefüllt. Da sich bei dem zunächst befolgten je fünfmaligem Erhitzen im strömenden Dampf ergab, daß namentlich in den Knochenmehl-, gelegentlich auch in den Hornmehl- und Blutmehllösungen doch keine sichere Sterilität er-

---

[1]) Hiltner und Störmer, Arb. aus der Biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. am kaiserl. Gesundheitsamt Bd. 3 Heft 5 1903 S. 449.

reicht war, so benutzte ich weiterhin für diese Fälle den Autoclaven.

Die bis dahin auf Agar fortgezüchteten Bakterien wurden zuerst in kleinere Mengen derselben Lösungen gebracht, von denen sie ursprünglich isoliert waren. Nachdem sich in den betreffenden Gläsern eine lebhafte Bakterienentwicklung bemerklich machte, wurde von hier aus vermittelst Glaskapillaren in die Versuchskolben übergeimpft. Vor der nach fünf und nach zehn Tagen stattfindenden Destillation wurden die Lösungen wiederholt durch Anlegung von Gußkulturen auf ihre Reinheit geprüft. Stets abgesehen von den schon erwähnten Ausnahmen wurden sie rein gefunden.

In jedem Falle wurden, wie bei den mit Erde durchgeführten Umsetzungsversuchen, Parallelreihen geimpft und die erforderlichen sterilen Kontrollkolben hinzugefügt.

IV. Boden.

Eine nähere Beschreibung des für die Untersuchung benutzten Bodens, und zwar sowohl vom geologischen als auch vom landwirtschaftlichen Standpunkt aus, hat Kirchner[1]) geliefert. Es handelt sich um einen „steinigen, sandig-tonigen“ sogen. „schweren“ Lehm.

[1]) Kirchner, Das Versuchsfeld des landw. Instituts der Univ. Leipzig, 1903.

Die ungünstigen Eigenschaften dieser Bodenart treten infolge eines relativ hohen Grundwasserstandes besonders deutlich hervor. Durch Drainage und regelmäßige Kalkdüngung wird ihnen nach Möglichkeit entgegengewirkt, so daß im allgemeinen die Vorbereitung des Bodens für die Saat gewöhnlich nicht mit größeren Schwierigkeiten verknüpft ist. Der Boden ist sehr reich an feinen Teilen; 92,5 % haben einen Durchmesser von weniger als $^1/_2$ mm; 40,3 % davon sind abschlämmbar (im Kühnschen Zylinder). Steine (> 5 mm) finden sich nur zirka 1,7 % darin vor. Nach dem Durchschnitt zahlreicher Analysen[1]) enthält der Boden an pflanzlichen Nährstoffen insgesamt:

Stickstoff	0,10 %	
Phosphorsäure	0,045 %	in kalter konzentrierter Salzsäure löslich.
Kali	0,031 %	
Kalk	0,145 %	
Tonerde und Eisenoxyd	0,697 %	

Alle Gewächse haben sich für Stickstoffdüngung besonders dankbar erwiesen, jedoch weniger für Kali und Phosphorsäure. Der Kalkgehalt ist an sich recht niedrig, aber die daraus entspringenden Nachteile sind mit Erfolg durch regelmäßige Kalkdüngung ausgeglichen worden.

---

[1]) Kirchner l. c. S. 5.

V. Wetter.

Da der Ertrag unserer Feldfrüchte in hohem Maße vom Wetter abhängt, so war zu vermuten, daß auch die Bakterien des Bodens dadurch in ihrer Wirksamkeit beeinflußt würden. Die Notwendigkeit, bei bodenbakteriologischen Untersuchungen das Wetter mit in Betracht zu ziehen, ist besonders von Hiltner und Störmer[1]) betont worden. Allerdings beschränkten sie sich darauf, den wechselnden Feuchtigkeitsgehalt der Erdproben zu bestimmen, während Löhnis[2]) darauf hinwies, daß die Ermittlung des jeweiligen Wassergehaltes noch nicht genüge; dieselbe müsse notwendigerweise durch Angaben über die Bodentemperatur ergänzt werden.

Die Witterungsdaten werden in Oberholz jeden Morgen um 8 Uhr notiert. Die Zahlen, welche für diese Arbeit von Bedeutung sind, finden sich am Schlusse in Tabelle I. Zwecks größerer Übersichtlichkeit wurden die Zahlen für Monatsdrittel berechnet, und die für die vollen Monate sich ergebenden Werte mit den Normalzahlen in Vergleich gesetzt, die für Leipzig seitens der Universitäts-Sternwarte für die Jahre 1863—1890 ermittelt wurden.

Da Oberholz nur 13 km von Leipzig entfernt ist, so sind diese Daten durchaus verwendbar.

---

[1]) Hiltner und Störmer l. c. S. 473.

[2]) Löhnis l. c. S. 22.

Hiernach ergibt sich, daß die Lufttemperaturen in den angegebenen Monaten, abgesehen vom September, beträchtlich über Normal standen. Der Winter 1905/06 war durchweg besonders milde. Niedrige Temperaturen hielten niemals lange an. Besonders bemerkenswert ist der Januar mit einer Temperatur von 6—7 ° über Normal.

Was die im Boden in einer Tiefe von 10 cm vorhandene Temperatur anlangt, so zeigt diese ein mit dem Gange der Lufttemperatur übereinstimmendes Verhalten. Die Minima wurden im Januar und Februar erreicht. Obgleich im Dezember an 21, im Januar an 17 und im Februar an 24 Tagen Nachtfröste beobachtet wurden, wirkten sie doch nur sehr wenig auf die 10 cm unter der Oberfläche vorhandene Temperatur ein. Das Minimum betrug hier nur — 0,15 ° C für die ersten zehn Tage des Januar.

Hinsichtlich der Niederschläge ist zu bemerken, daß, namentlich im September, Oktober und November, starke Regenfälle niedergingen; die Monate Dezember, Januar und Februar waren dagegen verhältnismäßig trocken. Vor allem blieben der Dezember mit 7 mm und der Februar mit 15 mm erheblich unter Normal.

Die Sonnenscheindauer war im September und Oktober relativ gering, bezw. hielt sich die Bewölkung zu dieser Zeit über Normal. November und Januar hatten wesentlich mehr heitere Tage als dem Durchschnitt entspricht. Der Dezember ging in dieser

Hinsicht unter das Mittel, und Februar stieg ein wenig darüber.

VI. Ergebnisse der Umsetzungsversuche.

In allen Fällen wurden soweit als möglich die Bodenproben am Anfang des Monats entnommen; nur in zwei Fällen machte sich teils wegen anderer Arbeit, teils wegen ungünstiger Witterung, eine Verlegung des Termins erforderlich.

Unmittelbar nachdem der Boden in das Laboratorium gebracht war, wurde der Wassergehalt in der gewöhnlichen Weise durch Trocknen bei 100° C (bis zur Gewichtskonstanz) bestimmt.

Über den Beginn der verschiedenen Versuchsreihen, die jeweils herrschende Bodentemperatur sowie über den Wassergehalt der Erdproben, orientiert folgende Übersicht:

Tag der Probenahme	Bodentemperatur bei 10 cm Tiefe	Wassergehalt in Gewichtsprozenten Probe I	Probe II
11. Oktober	6.6° C	15.85	—
2. November	5.8° „	16.44	16.33
1. Dezember	0.0° „	15.90	16.33
11. Januar	2.2° „	18.00	17.60
8. Februar	0.2° „	15.90	17.02
1. März	1.2° „	16.74	17.54

Wie schon erwähnt, zeigte sowohl die Bodentemperatur wie auch der Wassergehalt verhältnismäßig

wenig erhebliche Differenzen. Dies tritt namentlich dann deutlich hervor, wenn man die für den Winter 1905/06 ermittelten Werte mit denjenigen vergleicht, die sich für denselben Boden vom Herbst 1903 bis Frühjahr 1904 ergaben.[1])

Tag der Probenahme	Wassergehalt	Bodentemperatur
25. August 1903	14.0 %	15.6
6. November „	18.0 „	12.0
15. Januar 1904	20.5 „	0.0
9. März „	19.3 „	2.2
9. Mai „	16.0 „	9.2

In Tabelle II sind die analytischen Befunde zusammengestellt, die sich bei der Bestimmung derjenigen Mengen von Ammoniakstickstoff ergaben, die innerhalb fünf bezw. zehn Tagen durch die mit der Erde den Kolben einverleibten Mikroorganismen gebildet wurden.

Ein Vergleich der für die Parallelreihen erlangten Resultate läßt erkennen, daß sich die Differenzen in den meisten Fällen zwischen zwei und sechs Prozent halten. Nur für die aus der Blutmehllösung abdestillierten Quantitäten von Ammoniakstickstoff ergeben sich etwas bedeutendere Abweichungen, die aber wegen der geringen absoluten Größe dieser Zahlen kaum in Betracht kommen.

Um bei der nachfolgenden Besprechung der Be-

---

[1]) vgl. Löhnis l. c. S. 24.

funde die Übereinstimmungen und Unterschiede deutlicher hervortreten zu lassen, berechnete ich die Vergleichszahlen in der Weise, daß ich die für Probe I ermittelten Novemberwerte, die in einigen Fällen die Maxima, in anderen dagegen die Minima darstellten, gleich 100 setzte und die entsprechenden Umrechnungen vornahm.

Für die mit Pepton Merck hergestellten Lösungen ergeben sich folgende Zahlenreihen:

	Probe I	Probe II
Oktober	98.2	—
November	100.0	99.8
Dezember	90.4	92.6
Januar	92.1	92.6
Februar	94.6	99.8
März	95.1	95.1

Ein Vergleich der beiden Reihen läßt erkennen, daß die für die beiden Erdproben ermittelten Resultate eine befriedigende Übereinstimmung zeigen. Da die Verhältnisse bei derartigen Versuchen denjenigen ähnlich sind, die für Felddüngungsversuche Geltung haben, so muß die Fehlergrenze entsprechend (zu etwa 5—8 %) angenommen werden.

Im einzelnen ist hinsichtlich der Intensität der Bildung von Ammoniak aus Pepton Merck zu ersehen, daß sich die für Oktober und November ermittelten Werte ungefähr auf gleicher Höhe halten; im Dezember tritt eine deutliche Abnahme ein, von da an und bis zum März folgt

ein allmähliches Wiederaufsteigen der Stärke der Ammoniakbildung.

Wie bereits erwähnt wurde, führte Löhnis gelegentlich einige vergleichende Untersuchungen über die Bildung von Ammoniak aus Pepton Merck, bezw. Knochenmehl aus, und es mögen deshalb auch an dieser Stelle zunächst die für das Knochenmehl erlangten Resultate vergleichsweise angeführt werden. Für dasselbe ergeben sich folgende Zahlenreihen:

	Probe I	Probe II
Oktober	117.2	—
November	100.0	105.7
Dezember	126.2	117.2
Januar	126.2	117.2
Februar	111.9	120.5
März	116.8	127.8

Man ersieht daraus, daß sich in Übereinstimmung mit den Befunden des genannten Autors der Einfluß des Winters nicht besonders stark bemerklich machte. Die Differenzen stellten sich bei den von Löhnis[1]) durchgeführten Versuchen auf 20—26 %, stimmten also mit den von mir beobachteten Abweichungen nahezu überein.

Diese Zahlen erscheinen namentlich dann als sehr gering, wenn man die starken Schwankungen berück-

---

[1]) Löhnis l. c. S. 28.

sichtigt, die Löhnis[1]) für die Bildung von Ammoniak aus Kalkstickstoff und Harnstoff ermittelte. Die Intensität war dort im Sommer 5—8 mal, beim Knochenmehl dagegen nur $^1/_3$ mal so groß als im Winter.

Mit den für Pepton Merck erlangten Befunden verglichen, sind die von mir für das Knochenmehl erhaltenen Zahlen etwa doppelt so groß.

Löhnis hatte vergleichsweise für Pepton Merck 13, für Knochenmehl 19 % Differenzen, also bei diesen $1^1/_2$ mal so große Abweichungen ermittelt. Eine weitere Verschiedenheit bei der Bildung von Ammoniak aus Pepton Merck und aus Knochenmehl besteht darin, daß der Verlauf der Zersetzung des Knochenmehls von der Peptonzersetzung insofern abweicht, als bei jener im November das Minimum, bei dieser dagegen das Maximum erreicht wurde.

Über das Verhalten von Pepton Schering und Pepton Witte orientiert folgende Übersicht:

	Pepton Schering		Pepton Witte	
	Probe I	Probe II	Probe I	Probe II
Oktober	93.0	—	94.2	—
November	100.0	103.6	100.0	100.6
Dezember	102.6	97.8	99.3	101.3
Januar	88.2	87.1	95.5	90.0
Februar	83.4	84.7	92.9	96.8
März	81.3	76.0	79.5	71.8

[1]) Löhnis, Zentralbl. f. Bakt. Abt. 2 Bd. 14 S. 95; Habilitationsschrift 36 und 40.

Zunächst ergibt sich, daß beide Lösungen in der Hauptsache einen sehr ähnlichen Verlauf der Umsetzungen zeigten. Wie bei Pepton Merck wurde der Höhepunkt im November und im Dezember erreicht; dagegen trat dann ein ausgesprochener Rückgang des „Zersetzungsgrades" ein. Die Gesamtdifferenzen sind in diesen Fällen von ähnlichem Umfange wie bei der Knochenmehlzersetzung, indem sie sich auf 20—30 % belaufen.

In ähnlicher Weise wie Pepton Witte und Schering können auch Hornmehl und Blutmehl in Parallele gesetzt werden. Bei beiden Substanzen sind die umgesetzten Mengen an sich ziemlich gering und damit steht im Zusammenhange, daß die Differenzen, die sich zwischen den für die beiden Erdproben jeweils erlangten Resultate bemerklich machen, in einigen Fällen etwas über die im allgemeinen gültige Fehlergrenze (von 5—8 %) hinausgehen. Wenigstens scheinen mir die beobachteten Abweichungen hierin ihre Erklärung zu finden, da bald die eine, bald die andere Erdprobe höhere Werte aufweist. In Anbetracht dieses Umstandes mögen in diesem Falle auch die Durchschnittszahlen hier Platz finden.

Hornmehl

	Probe I	Probe II	Durchschn.
Oktober	108.4	—	108.40
November	100.0	98.2	99.10
Dezember	109.4	101.9	105.65

	Probe I	Probe II	Durchschn.
Januar	109.4	94.3	101.85
Februar	100.9	109.4	105.15
März	102.8	111.3	107.05

Blutmehl

	Probe I	Probe II	Durchschn.
Oktober	144.3	—	144.30
November	100.0	87.0	93.50
Dezember	100.0	103.3	101.65
Januar	86.6	86.6	86.60
Februar	93.3	100.0	96.65
März	93.3	100.0	96.65

Im allgemeinen ergibt sich auch in diesem Falle wieder, daß die Jahreszeit keinen großen Einfluß auf den Verlauf der Ammoniakbildung ausgeübt hat.

Aus den vorstehenden Darlegungen resultiert, daß die im Laufe der Zeit auftretenden Schwankungen in der Intensität der Ammoniakbildung (d. h. des „Zersetzungsgrades") für die verschiedenen organischen stickstoffhaltigen Substanzen nicht den gleichen Verlauf zeigten. Dies lehrt namentlich ein Blick auf die am Schlusse der Arbeit beigefügte Kurventafel, in die die entsprechenden Linien nach den Durchschnittswerten eingetragen wurden.

Die bei der Zersetzung einer Substanz erlangten Befunde decken sich also im vorliegenden Falle nicht vollständig mit denen, die auf andere Weise erlangt wurden. Eine Substanz, z. B. Pepton Schering, kann

also in dieser Hinsicht nicht als allgemeiner Maßstab für die Intensität der Bildung von Ammoniak aus organischen Substanzen (der sogen. Fäulniskraft) dienen. Dagegen muß die Frage vorläufig offen gelassen werden, ob die „Fäulniskraft“ für die verschiedenen Substanzen auf verschiedenen Böden insofern eine Übereinstimmung zeigen wird, als die Reihenfolge der verschiedenen Stoffe hinsichtlich ihrer Zersetzungsfähigkeit die gleiche ist, d. h. Pepton Merck an erster und Blutmehl an letzter Stelle steht. Die Wahrscheinlichkeit für eine solche Übereinstimmung scheint mir allerdings nicht groß zu sein.

Die Differenzen bezw. Übereinstimmungen die sich bei den Vorversuchen für die Schnelligkeit der Ammoniakbildung der verschiedenen Substanzen ergaben, treten auch beim Gesamtverlaufe der betreffenden Umsetzungen wieder hervor. Eine Übereinstimmung zwischen sämtlichen Substanzen ist nur insofern vorhanden, als die Schwankungen des „Zersetzungsgrades“ durchweg verhältnismäßig gering waren.

Auch die Intensität der Ammoniakbildung selbst muß als relativ recht gering bezeichnet werden. Der Stickstoff des Pepton Schering wurde unter dem Einfluß unseres Bodens innerhalb 9 Tagen nur zu 51—55% in Ammoniak übergeführt. Ähnlich unvollständig war die Umwandlung des in Form von anderen organischen Substanzen zugeführten Stickstoffs. Remy[1])

[1]) Remy l. c. S. 661.

ermittelte dagegen nach achttägiger Versuchsdauer unter Benutzung von Pepton Schering eine „Fäulniskraft“ der untersuchten Böden von 71—86%, Ehrenberg[1]) unter Benutzung derselben Peptonsorte und bei gleicher Versuchsdauer bis 71%. Auch den von Wohltmann, H. Fischer und Schneider[2]) gefundenen Zahlen gegenüber, stehen die von mir erlangten wesentlich zurück. Diese Autoren fanden in den mit Pepton Witte hergestellten Lösungen nach 3 Tagen 34—43%, nach 4 Tagen 43—51% des Stickstoffs als Ammoniak, während bei meinen Versuchen innerhalb 5 Tagen im gleichen Präparat nur 26—35% des Stickstoffs umgesetzt wurden. Wie allgemein bekannt, zeigen sich die verschiedenen Bodenarten durchaus nicht in gleicher Weise dankbar für eine Düngung mit organischen Stickstoff. Die Wirkung derartiger Düngemittel ist auf den weniger „tätigen“ Böden, zu denen auch derjenige des Versuchsfeldes in Oberholz gehört, meist ziemlich gering, und wenn Remy für den sandigen Boden des Berliner Versuchsfeldes bei seinen Umsetzungsversuchen doppelt so hohe Werte erhalten hat, als ich sie bei meinen Untersuchungen gefunden habe, so dürfte dies wohl im allgemeinen ein zutreffendes Bild für die stärkere „Tätigkeit“ des leichteren Bodens sein. Da die durch Jahreszeit, Wetter usw. hervor-

---

[1]) Ehrenberg l. c. S. 53.

[2]) Wohltmann re l. c. S. 108—111.

gerufenen Schwankungen in der Intensität der Ammoniakbildung, wie gezeigt wurde, nur gering sind, so erscheinen die von Remy angebahnten vergleichenden Bodenuntersuchungen in dieser Hinsicht am ehesten durchführbar, während bei anderen im Laufe des Jahres stark schwankenden Umsetzungen (z. B. bei der Kalkstickstoffzersetzung) es viel schwieriger ist, den allgemeinen biologischen Charakter des betreffenden Bodens festzustellen.

VII. Die am häufigsten aufgefundenen Bakterienarten.

Wie bereits kurz erwähnt, wurden zuerst die Bakterien aus den Lösungen isoliert, die mit den im Oktober dem Felde entnommenen Erdproben geimpft waren, und zwar wurden vor dem Plattengießen fünfmal hintereinander Überimpfungen, jedesmal unter Benutzung der betreffenden Lösungen, durchgeführt. Dieses Verfahren wurde angewendet, um die vermutlich in der Ausgangslösung noch vorhandenen zufälligen Begleitbakterien zu verdrängen. Die auf solche Art erlangten Bakterienspezies waren jedoch so wenig zahlreich, daß ich mich weiterhin einer entsprechenden Prüfung der ursprünglichen mit Erde geimpften Lösung zuwandte, und zwar diente zu diesen Untersuchungen die im Dezember durchgeführte Versuchsreihe.

Die nachstehende Übersicht läßt erkennen, daß die im Oktober und im Dezember erlangten Resultate nahezu übereinstimmen. Bereits in der mit Erde geimpften Lösung war also die Bakterienflora verhältnismäßig sehr gleichförmig.

Es wurden isoliert

im Oktober nach 5 mal wiederholter Überimpfung:	im Dezember direkt aus der mit Erde geimpften Lösung:
Aus Pepton Merck	
Bact. Fluorescens	Bact. fluorescens
	Bact. punctatum
	Bact. putidum
Aus Pepton Witte	
Bact. punctatum	Bact. punctatum
Bact. putidum	Bact. putidum
Bact. vulgare var. Zopfii	Bact. vulgare var. Zopfii
Aus Pepton Schering	
Bact. punctatum	Bact. punctatum
Bact. putidum	Bact. putidum
Bact. vulgare var. Zopfii	
Aus Knochenmehl	
Bact. punctatum	Bact. punctatum
Bact. putidum	Bact. putidum
Bact. vulgare var. Zopfii	Bact. vulgare var. Zopfii
Bact. vulgare	Bact. vulgare
Bact. turcosum	Bact. fluorescens
Micrococcus candicans	Micrococcus candicans

Aus Hornmehl

Bact. punctatum	Bact. punctatum
Bact. fulvum	Bact. fulvum
Bact. putidum	Bact. putidum
	Bact. turcosum
	Bact. fluorescens
	Micrococcus candicans

Aus Blutmehl

Bact. putidum	Bact. putidum
Bact. fulvum	Bact. fulvum
	Bact. punctatum

Weiterhin wurden auch im Januar und im März nochmals entsprechende Untersuchungen angestellt, um den etwaigen Einfluß der Jahreszeit zu ermitteln. Hierbei ergaben sich folgende Resultate:

In der mit Pepton Merck hergestellten Lösung zeigten sich stets genau die gleichen Bakterienarten: Bact. fluorescens, punctatum und putidum. Pepton Witte ergab im März dieselben Befunde wie im Dezember. Im Januar fanden sich einige Fluoreszenten vor, dagegen wurde das Bact. vulgare var. Zopfii in diesem Falle nicht sichtbar.

Pepton Schering wies im Januar und März außer den im Dezember gefundenen Arten noch Bact. fluorescens, sowie Bact. vulgare var. Zopfii auf.

In der Knochenmehllösung zeigten sich ebenfalls durchweg annähernd die gleichen Arten; nur Micro-

coccus candicans und Bact. turcosum fehlten in einem Falle.

Für das Hornmehl ergab sich ein sehr ähnliches Resultat. Auch hier verschwanden einmal die beiden eben genannten Arten. Was schließlich das Blutmehl anlangt, so blieb bei diesem der Bakterienbestand völlig konstant.

Im allgemeinen fanden sich demnach in allen Monaten annähernd die nämlichen Arten. Diejenigen Spezies, die gelegentlich verschwanden und wieder erschienen, waren auf den Platten, wenn überhaupt vorhanden, nie sehr häufig. Man sieht, daß vor allem Bact. putidum (Flügge) L. et N. und Bact. punctatum (Zimm.) L. et N. sehr regelmäßig in den verschiedenen Lösungen auftraten. Besonders stark traten sie bei den aus Pepton Witte und Schering hergestellten Lösungen in den Vordergrund, während bei Pepton Merck die verflüssigenden Fluoreszenten fast allein das Feld beherrschten. Diese Tatsachen scheinen auch aus dem Grunde beachtenswert, weil die drei genannten Arten entschieden als miteinander verwandt zu betrachten sind. Als wesentliches Scheidungsmerkmal kann nach Lehmanns und Neumanns Darlegungen[1]) nur das Fehlen oder Vorhandensein des Verflüssigungsvermögens bezw. der Fluoreszenz in Frage kommen. Für Hornmehl und Blutmehl scheint Bact. fulvum,

---

[1]) Lehmann und Neumann, Diagnostik 3. Aufl. 1904.

für das Knochenmehl dagegen Proteus charakteristisch zu sein.

Die kulturellen Eigenschaften der isolierten Bakterien entsprachen in der Hauptsache durchaus den vorhandenen Beschreibungen. Nur diejenigen Stämme, die auf Grund ihrer sonstigen Eigenschaften zu Bact. vulgare var. Zopfii, Bact. fulvum bezw. turcosum gestellt werden müssen, zeigten einige erwähnenswerte Besonderheiten. Bact. vulgare var. Zopfii wurde nach der von Löhnis[1]) gegebenen Beschreibung identifiziert. Die von mir aufgefundenen Stämme differierten nur insofern, als sie wegen des etwas stärker ausgeprägten Verflüssigungsvermögens und der noch größeren Unbeständigkeit in der Bildung von Ästchen im Gelatinestich und an der Agarstrichkultur dem typischen Bact. vulgare noch näher standen.

Bact. fulvum [Zimm.] L. et N. fiel mir durch seine eigentümlichen Kolonieformen auf, die auf der Gelatineplatte bei schwacher Vergrößerung sternblumenartig erschienen. In der Literatur fand ich keine Bemerkung über diese atypischen Bildungen.

Dr. Löhnis machte mich aber darauf aufmerksam, daß er ähnliche Koloniebilder bei derselben Art auf Glyzerinsalpeteragar erhalten habe. Bact. turcosum [Zimm.] L. et N. verflüssigte die Gelatine in geringem Grade, unterschied sich hierdurch also von den von Lehmann und Neumann[2]) sowie von Löhnis[3])

[1]) Löhnis, Zentralbl. f. Bakt. Abt. 2 Bd. 14 1905 S. 99.
[2]) Lehmann-Neumann, Bakt. Diagnostik 1904 S. 296.
[3]) Löhnis, Zentralbl. f. Bakt. Abt. 2 Bd. 14 S. 600.

untersuchten Stämmen, entsprach dagegen der von Migula[1]) herrührenden Beschreibung.

VIII. Ergebnisse der Versuche mit Reinkulturen.

In Tabelle III finden sich diejenigen Resultate zusammengestellt, die erkennen lassen, in welchem Grade sich die verschiedenen isolierten Stämme zur Ammoniakbildung befähigt erwiesen, und zwar sowohl in denjenigen Lösungen, aus denen sie isoliert wurden, wie auch in den anderen zur vorliegenden Untersuchung verwendeten. Aus den Zahlen geht hervor, daß die verschiedenen Arten eine sehr ungleiche Wirksamkeit in dieser Hinsicht entfalteten, und daß einige Arten eine besondere Vorliebe für eine bestimmte Substanz zeigen. So zersetzen die aus Pepton Merck isolierten Stämme von Bakt. fluorescens sämtlich diese Substanz in beträchtlichem Grade. Bis zu 34 % des vorhandenen Stickstoffs wurden in Ammoniak übergeführt. Dagegen war die Einwirkung dieser Formen auf die übrigen stickstoffhaltigen Substanzen relativ gering. Sehr ähnlich verhielt sich Bact. putidum, während andrerseits Bact. punctatum sämtliche Substanzen, aber nur in beschränktem Umfange zersetzte.

Da sich bei der Prüfung der Reinkulturen oft nur sehr niedrige Werte ergaben, so wurden auch jedesmal die aus der betreffenden Lösung isolierten Stämme ge-

[1]) Migula, System d. Bakt. Bd. 2 1900 S. 937.

meinsam in dieselbe eingeimpft, um zu sehen, ob sie etwa gegenseitig fördernd aufeinander einwirken würden. Wie sich aus den in Tabelle III mitgeteilten Zahlen ergibt, war dies nicht der Fall; es wurden hierbei nur entsprechende Durchschnittswerte erlangt.

Vergleichen wir die in diesem Falle erlangten Befunde mit denjenigen Mengen an Ammoniakstickstoff, die Marchal[1]) unter Verwendung von Eiweiß, Stoklasa[2]) und Löhnis[3]) in Knochenmehl- und Pepton Merck-Lösung für Stämme derselben Bakterienarten erlangten, so ergibt sich folgende Übersicht:

	Bact. Vulgare	Bact. Fluorescens	Bact. Putidum	Micrococcus Candicans
nach Marchal, 20 Tage bei 30°	22%	16%	22%	—
nach Stocklasa, 33 Tage bei Zimmertemp.[4])	48.57%	22.60%	—	—
nach Löhnis, Knochenmehl, 3 Wochen bei Zimmertemp.	28.08%	2.5—17.02%	1.70%	1.70%

[1]) Marchal, Zentralbl. f. Bakt., Abt. 2 Bd. 1 1895 S. 757.

[2]) Stoklasa, Zentralbl. f. Bakt. Abt. 2 Bd. 6 1900 S. 526.

[3]) Löhnis, Habilitationsschrift S. 78 u. 79.

[4]) Infolge der von diesem Autor angewandten Arbeitsweise (Behandlung der Substanz mit Salzsäure vor der Destillation) sind die betreffenden Zahlen relativ hoch.

	Bact. Vulgare	Bact. Fluorescens	Bact. Putidum	Micrococcus Candicans
nach Löhnis, Pepton Merck 10 Tage bei Zimmertemp.	10.1%	21.39%	24.0%	6.0%
Eigene Versuche, Knochenmehl, 10 Tage bei Zimmertemp.	10.4%	2.59%	0.7—2.5%	1.27—9.96
Eigene Versuche, Pepton Merck, 5 Tage bei Zimmertemp.	16.8%	28%—34%	16.0—25.0%	1.33—21.2%

In Übereinstimmung mit den früheren Befunden zeigten also auch bei meinen Versuchen verschiedene Stämme derselben Art sehr ungleich große Fähigkeiten. Da seit der Isolierung der Reinkulturen stets 3—4 Monate verstrichen waren, ehe die Umsetzungsversuche mit ihnen durchgeführt wurden, so schien es zweckmässig auch einige frisch isolierte Stämme in gleicher Richtung zu prüfen. Wie die nachstehende Tabelle lehrt, ergaben sich keine beträchtlichen Differenzen. Eine Abnahme der Fähigkeit zur Ammoniakbildung scheint also bei der Fortzüchtung auf festen Substraten nicht eingetreten zu sein. Es wurden folgende Mengen an Ammoniakstickstoff (in Prozenten des Gesamtstickstoffes) gefunden:

(Versuchsdauer 5 Tage.)

	Bact. punctatum	Bact. putidum	Bact. fluorescens
Pepton Merck	17.00	19.48	31.80
Pepton Witte	9.52	6.27	2.12
Pepton Schering	6.00	6.00	2.18
Knochenmehl	10.40	0.72	2.50
Hornmehl	6.17	1.10	0
Blutmehl	3.32	0.0	0.75

Da ein Vergleich von Tabelle II mit III erkennen läßt, daß die bei den mit Erde durchgeführten Umsetzungsversuchen erzielten Quantitäten an Ammoniak in den meisten Fällen beträchtlich größer waren, als diejenigen, welche durch die Rein- bezw. Mischkulturen gebildet wurden, wie dies besonders deutlich bei Pepton Witte und Schering hervortritt, so fragt es sich, auf welche Ursachen diese Differenzen zurückzuführen sind. Eine Abnahme der Umsetzungskraft ist, wie gezeigt wurde, nicht wahrscheinlich. Die Unterschiede in der Menge der bei der Erdimpfung bezw. bei den Versuchen mit Reinkulturen den Kolben einverleibten Bakterien können gleichfalls als Ursache kaum in Betracht kommen. Dagegen dürfte die Annahme die größte Wahrscheinlichkeit für sich haben, daß anaërobe Arten in den mit Erde geimpften Kolben kräftig an der Zersetzung der organischen Substanzen mitwirkten. Auch auf derartige Organismen muß demnach bei künftigen Untersuchungen von vorherein Rücksicht ge-

nommen werden. Besonders gilt dies hinsichtlich Pepton Witte und Schering, deren Zersetzungskurven einen sehr ähnlichen Verlauf zeigen, und von denen in keinem Falle kräftig wirkende aërob gedeihende Arten isoliert werden konnten.

In bezug auf das für die Hornmehl- und Blutmehllösung charakteristische Bacterium Fulvum ist noch zu bemerken, daß Marshall[1]) vor einiger Zeit über eine ganz ähnliche, wahrscheinlich sogar identische, kräftig Ammoniak bildende Form berichtete.

Wie es auch bei den verschiedenen Stämmen der anderen Arten der Fall ist, ergaben sich für das Ammoniakbildungsvermögen des Bact. fulvum gleichfalls bedeutende Differenzen. Stamm I verwandelte 8.3% des in Pepton Schering enthaltenen Stickstoffs in Ammoniak, während die drei übrigen Stämme überhaupt keine Wirkung darauf ausübten. Derselbe Stamm I zeigte auch in der Knochenmehllösung die größte Wirksamkeit; dagegen wurde er bei der Impfung auf Pepton Witte, Merck und Blutmehl von einigen der anderen übertroffen.

Bestimmte allgemeingültige Wirkungswerte können demnach für die verschiedenen Arten nicht festgestellt werden. Die stark differierenden Eigenschaften der

[1]) Marshall, Zentralbl. f. Bakt. Abt. 2 Bd. 15 1905 S. 412. Sein „germ. B" kann nach der von Conn herrührenden Beschreibung (l. c. S. 416) vom Bact. fulvum nicht unterschieden werden.

Stämme derselben Art haben eine leider nicht zu beseitigende Unsicherheit der unter Benutzung der Reinkulturen erlangten Umsetzungsergebnisse zur Folge.

Zum Schlusse möchte ich nicht unterlassen meinen hochverehrten Lehrern Herrn Geh. Hofrat Prof. Dr. Kirchner sowie Herrn Privatdozent Dr. Löhnis, auf dessen Anregung hin diese Arbeit entstanden ist, für das jederzeit erwiesene Wohlwollen meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

I. Witterung

vom September 1905 bis Februar 1906.

Jahr	Monat	Tag	Temperatur (° C.) Mittel-Tagestemperatur	Temperatur (° C.) Bodentemp. in 10 cm Tiefe	Tage m. Nachtfrost	Niederschläge in mm	Niederschläge Tage mit Niederschlag	Sonnenschein Dauer Stunden	Sonnenschein Dauer Minuten	Sonnenschein Tage	Bewölkung %
1905	Sept.	1—31	12.9	12.7	—	88	10	92	15	23	71
		Gg.Normal	— 0.8			+ 42					+ 14
	Okt.	1—10	6.9	8.1	—	63.2	8	8	44	4	
		11—20	4.4	5.2	2	30.2	6	22	21	6	
		21—31	4.0	3.6	5	5.8	3	21	29	9	
		1—31	5.0	5.5	7	99.2	17	52	34	19	+ 14
		Gg.Normal	— 3.9			+45.2					80
	Nov.	1—10	6.7	5.8	1	46.3	3	23	52	7	
		11—20	0.5	2.0	8	27.6	4	9	13	3	
		21—30	2.4	2.0	7	7.8	2	22	14	6	
		1—30	3.2	3.3	16	81.7	9	55	19		77
		Gg.Normal	— 0.4			+31.7					+ 5
	Dez.	1—10	2.9	1.5	7	7.4	2	4	52	3	
		11—20	1.1	1.8	6	9.8	2	13	42	4	
		21—31	1.0	0.9	8	20.5	5	8	42	2	
		1—31	1.6	1.3	20	37.7	9	27	16	9	89
		Gg.Normal	+ 2.3			— 7.3					+ 16
1906	Jan.	1—10	0.6	—0.15	6	15.1	4	17	7	6	
		11—20	6.0	2.2	4	6.2	3	13	22	6	
		21—31	— 1.2	0.05	7	12.1	5	20	4	8	
		1—31	1.7	0.6	17	33.4	12	50	33	20	54
		Gg.Normal	+ 6.7			+ 1.4					— 16
	Febr.	1—10	— 0.3	0.2	10	7.2	6	12	00	5	
		11—20	0.6	0.0	8	4.8	3	7	44	5	
		21—28	2.7	1.7	6	5.8	4	15	38	5	
		1—28	0.9	0.7	24	17.8	13	35	22	15	66
		Gg.Normal	+ 0.5			—15.2					— 3

II. Ergebnisse der Umsetzungsversuche mit Erde.

An durch Magnesia usta abspaltbaren Stickstoff sind in den verschiedenen Lösungen folgende Mengen vorhanden: Im sterilen Zustande: Merck 2.24 mg, Witte 0.42 mg, Schering 0.56 mg, Knochenmehl 0.56, Hornmehl 1.68, Blutmehl 0.42 mg.

Lösungen	Boden-Probe	Parallele	Okt.	Nov.	Dez.	Jan.	Febr.	März
Pepton Merck	I	a	32.48	32.90	29.68	29.96	30.80	31.08
		b	32.48	33 04	29.96	30.30	31.64	31.64
	II	a		33.04	30.24	31.08	32.76	31.08
		b	—	32.76	30.80	29.96	33.04	31.64
Pepton Witte	I	a	21.0	21.28	21.28	20.72	20.44	17.36
		b	20.16	22.42	22.12	21.00	20.16	17.36
	II	a		22.12	22.40	19.74	21.28	15.68
		b	—	21.84	21.84	19.60	21 00	15.68
Pepton Schering	I	a	24.64	26.88	26.88	23 24	22.40	21.28
		b	24.08	25.48	26.88	22.96	21.28	21.28
	II	a		26.32	26.04	22.96	22.54	20.16
		b	—	27.72	25.20	22.68	21.84	19.60
Knochen-mehl	I	a	20.44	17.36	22.40	21.28	19.46	20.44
		b	19.60	16.80	20 72	21.84	18.76	19.46
	II	a		18.20	20 44	20.44	20.16	22.40
		b	—	17.92	19 60	19.60	21.00	21.28
Hornmehl	I	a	8.26	7.28	7.84	8.40	7.70	7.56
		b	7.84	7.56	8 40	7.84	7.28	7.70
	II	a		7.28	7.56	7.00	7.98	8.40
		b	—	7.00	7.56	7.00	7.26	8.12
Blutmehl	I	a	3.08	2.24	2.10	1.68	1.96	1.96
		b	3.08	1.96	2.10	1.96	1.96	1.96
	II	a		1.96	2.24	1.96	1.96	1.96
		b	—	1.68	2.10	1.68	2,24	2.24

III. Ergebnisse der Versuche mit Reinkulturen.

An durch Magnesia usta abspaltbaren Stickstoff sind in den verschiedenen Lösungen folgende Mengen vorhanden: Merck 2.24 mg, Witte 0.42 mg, Schering 0.56 mg, Knochenmehl 0.56 mg, Hornmehl 1.58 mg, Blutmehl 0.42 mg.

Bakterien		Parallele	Pepton Merck	Pepton Witte	Pepton Schering	Knochenmehl	Hornmehl	Blutmehl
isoliert aus	Arten bezw. Stämme							
Pepton Merck	Bakt. fluorescens I	a	21.00	1.40	1.68	2.10	1.68	0.84
		b	20 16	1.68	1.68	2.24	1.68	0.84
	„ „ II	a	22 40	1 68	2.10	2.24	1.96	0.98
		b	21.70	1.68	2.10	2.24	1.82	0.84
	„ „ III	a	19.60	1.68	2.24	2.10	1.96	0.98
		b	20.44	1.82	2.10	2.24	1.96	1.12
	„ „ IV	a	21.28	1.87	2.10	2.24	2.24	0.84
		b	21.00	1.96	2.24	2.24	1.96	0.84
	„ „ V	a	21.28	1.68	2.52	2.10	2.24	0.84
		b	21.56	1.68	2.38	2.24	2.24	0.84
	„ „ VI	a	21.00	1.54	2.52	2.24	1.96	0.98
		b	21.28	1.68	2.38	2.24	2.10	1.12
	Alle zusammen	a	22.40	—	—	—	—	—
		b	21.84					
Pepton Witte	Bact. putidum I	a	13.44	0.70	0.84	1.12	1.12	0.56
		b	14.00	0.84	0.84	0.98	0.98	0.42
	„ punctatum I	a	11.20	2.80	5.88	6.44	5.60	2.24
		b	11.20	2.80	5.60	6.20	5.04	2.10
	„ „ II	a	12.32	3.92	6.44	6.72	5.32	2.52
		b	11.70	3.92	6.30	7.00	5.60	2.24
	„ „ III	a	14.28	3.78	6.72	7.00	5.32	2.80
		b	14.00	3.78	6.72	7.00	5.18	2.52
	„vulgare var. Zopfi	a	7.84	0.98	0.42	0.70	1.96	0.56
		b	7.84	0.84	0.42	0.84	1.84	0.56
	Alle zusammen	a	—	3.92	—	—	—	—
		b		3.64				

Tabelle III (Fortsetzung).

Bakterien		Parallele	Pepton Merck	Pepton Witte	Pepton Schering	Knochenmehl	Hornmehl	Blutmehl
isoliert aus	Arten bezw. Stämme							
Pepton Schering	Bact. putidum II	a	18.76	1.12	1.12	1.96	1.68	0.56
		b	17.92	1.12	1.12	2.24	1.68	0.84
	„ „ III	a	18.48	1.12	1.12	2.10	2.28	0.42
		b	17.64	0.98	0.84	2.24	2.00	0.42
	„ punctatum IV	a	14.00	3.36	6.72	6.44	5.46	2.80
		b	14.56	3.64	7.28	6.16	5.32	2.80
	„ vulg. var. Zopfii	a	4.20	0.84	0.56	1.40	2.66	0.56
		b	3.92	0.84	0.56	1.40	2.80	0.56
	Alle zusammen	a	—	—	5.60	—	—	—
		b			5.32			
Knochenmehl	Bact. putidum IV	a	17.92	0.98	0.98	1.40	1.40	0.56
		b	18.20	1.12	0.98	1.68	1.40	0.56
	„ „ V	a	12.04	0.70	0.98	1.68	1.96	0.56
		b	12.88	0.56	1.12	1.68	1.68	0.42
	„ punctatum V	a	12.04	4.20	9.38	7.56	4.46	2.24
		b	12.74	3.92	9.10	7.00	4.20	2.24
	„ vulgare var. Zopfii III	a	4.48	0.98	0.98	0.70	1.96	0.56
		b	4.48	1.12	1.12	0.70	1.96	0.56
	„ vulgare var. Zopfii IV	a	5.32	2.24	1.68	3.92	4.48	2.66
		b	5.18	2.24	1.40	3.92	4.20	2.80
	„ vulgare I	a	12.88	5.60	9.24	7.56	5.88	2.80
		b	12.60	5.32	8.96	7.28	5.60	2.80
	Micro. candicans I	a	15.4	4.48	7.00	7.00	5.60	1.40
		b	14.84	4.76	7.28	7.28	5.60	1.68
	Alle zusammen	a	—	—	—	5.60	—	—
		b				5.88		
Hornmehl	Bact. Putidum VI	a	16.24	1.12	0.84	2.24	1.40	0.56
		b	15.68	0.98	0.84	2.10	1.68	0.56
	„ Punctatum VI	a	12.32	5.04	7.28	6.08	4.20	2.24
		b	13.16	5.46	7.00	5.80	4.20	2.24
	„ Fulvum I	a	10.08	5.32	6.72	14.00	7.84	4.20
		b	10.64	4.90	7.00	14.28	7.28	4.06
	M. candicans II	a	2.36	1.40	0.84	1.40	1.40	0.56
		b	2.08	1.40	0.56	1.40	1.68	0.56
	B. turcosum	a	9.80	2.80	4.20	5.60	7.42	1.68
		b	9.24	2.80	4.48	5.88	7.00	1.40
	Alle zusammen	a	—	—	—	—	5.60	—
		b					5.32	

Tabelle III (Fortsetzung).

Bakterien		Parallele	Pepton Merck	Pepton Witte	Pepton Schering	Knochenmehl	Hornmehl	Blutmehl
isoliert aus	Arten bezw. Stämme							
Blutmehl	Bact. putidum VII	a	17.36	0.84	1.12	1.12	1.68	0.56
		b	17.92	0.84	0.98	1.12	1.40	0.42
	„ putidum VIII	a	17.64	0.70	1.12	1.96	2.80	1.12
		b	17.64	0.84	0.98	2.10	2.52	1.12
	„ fulvum II	a	10.08	4.48	0.56	9.24	5.32	3.92
		b	10.64	4.48	0.56	9.52	5.32	3.64
	„ fulvum III	a	9.80	7.28	0.56	9.80	5.60	4.20
		b	10.36	7.56	0.56	9.52	5.88	4.20
	„ fulvum IV	a	11.20	5.60	0.56	7.00	5.32	5.60
		b	11.76	5.88	0.56	7.00	5.04	5.74
	punctatum VII	a	11.48	5.46	7.68	5.80	4.48	2.48
		b	11.76	5.18	7.68	6.08	4.20	2.24
	Alle zusammen	a	—	—	—	—	—	4.20
		b						4.48

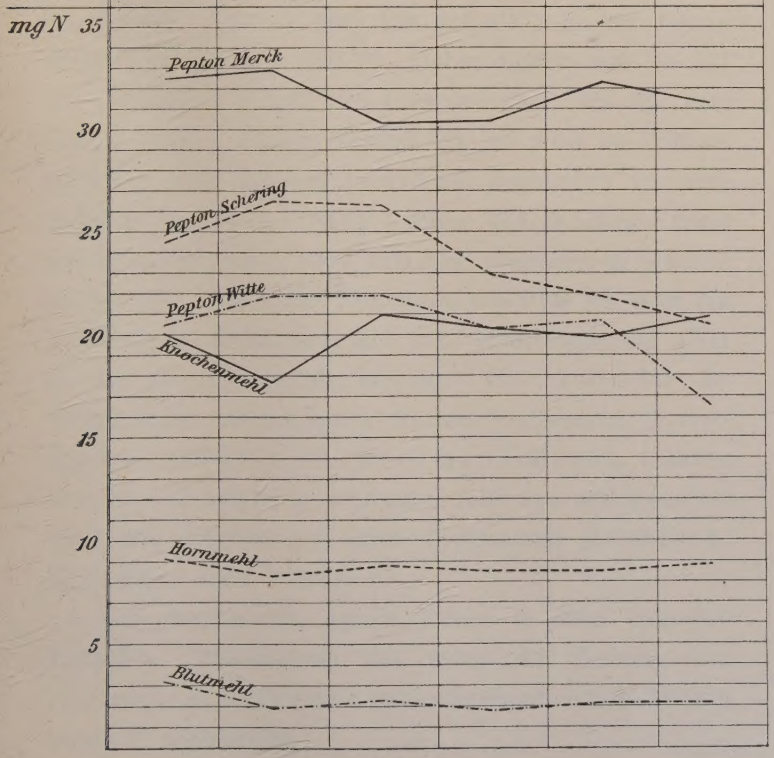
Spezialdruckerei für Dissertationen, Robert Noske, Borna-Leipzig.

Übersicht über den Verlauf der Stickstoffumsetzungen in den mit Erde beimpften Lösungen.

Pro 50 ccm Leitungswasser + 62.5 mg N. in Form von Pepton Merck
Pro 50 ccm Leitungswasser + 62.5 mg N. in Form von Pepton Witte
Pro 50 ccm Leitungswasser + 77.0 mg N. in Form von Pepton Schering
} 5 Tage Versuchsdauer.

Pro 50 ccm Leitungswasser + 66.0 mg N. in Form von Knochenmehl
Pro 50 ccm Leitungswasser + 63.5 mg N. in Form von Hornmehl
Pro 50 ccm Leitungswasser + 65.2 mg N. in Form von Blutmehl
} 10 Tage Versuchsdauer.

	Oktober	*November*	*Dezember*	*Januar*	*Februar*	*März*
Erd-Temperatur	*6·6°*	*5·8°*	*0·0°*	*2·2°*	*0·2°*	*1·2°*
Wasser im Boden	*15·85%*	*16·38%*	*16·11%*	*17·80%*	*16·46%*	*17·14%*



Lebenslauf.

Ich, Alfred Ernest Parr, protestantischer Konfession, wurde am 12. November 1884 in Ashley, England geboren, wo meine Eltern ein Landgut haben. Bis zum Alter von elf Jahren besuchte ich die Elementarschule des Dorfes. Danach ging ich auf die „Higher Grade School" zu Hanley und $2^1/_2$ Jahre später von da auf die „Grammar School" zu Brewood über, wo ich drei Jahre verblieb. Diese verließ ich, um mich im Wintersemester 1901 auf der Universität Edinburgh immatrikulieren zu lassen. Nach Verlauf des üblichen Kurses wurde ich im Jahre 1904 zum BSc. (Bachelor of Science) promoviert. Nach der Promotion arbeitete ich noch ein Semester in Edinburgh und vom Wintersemester 1904 ab an der Universität Leipzig. Hier hörte ich die Vorlesungen der folgenden Herren Professoren, Privatdozenten und Lektoren: Beckmann, Brahn, Cohen, Davies, Falke, Kirchner, Löhnis und Pfeffer. Praktisch arbeitete ich unter Professoren Hantzsch, Kirchner und Pfeffer.

Die vorliegende Arbeit wurde in dem bakteriologischen Laboratorium des unter der Leitung von Professor Dr. Kirchner stehenden landwirtschaftlichen Instituts angefertigt.